Aus dem Anatomischen Institut der Universität Breslau
(Direktor: Prof. Dr. Blotevogel)

Vitamin C, ein Hemmfaktor der Pigmentbildung?

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der hohen medizinischen Fakultät der Schlesischen Friedrich-Wilhelm-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Gerhard Skutta
aus Gleiwitz OS.

Mit 3 Abbildungen

Breslau 1940

Dissertationsdruckerei R. Nischkowsky (v. Heydebrand)

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Breslau

Referent: Prof. Dr. Blotevogel
Dekan: Prof. Dr. Gottron

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545807_0068

Das Problem des Pigmentstoffwechsels und seine Beziehung zu Wirkstoffen hat trotz mancher Einzelerkenntnisse bis jetzt noch zu keiner endgültigen Klärung führen können. Während Beziehungen zu einzelnen Hormonen bekannt wurden, sind wir über die Bedeutung exogener Wirkstoffe, nämlich von Vitaminen zum Pigmentstoffwechsel, noch völlig im Unklaren. Zwar hat man bei verschiedenen Avitaminosen pathologische Pigmentierungen beobachtet, so daß man sogar die Existenz von besonderen Pigmentvitaminen annahm. Auch bei Skorbut sind solche Pigmentationen gesehen worden, so daß man auch dem Vitamin C einen Einfluß auf Pigmentierungsvorgänge zuschrieb. Ganz besonders nahm man seit der Entdeckung Szent-Györgyis (1), daß Ascorbinsäure in vitro die Bildung von Melanin zu hemmen vermag, einen Einfluß des Vitamin C auf Pigmentierungsvorgänge an.

Eine Reihe von Untersuchungen haben sich sowohl klinisch, wie experimentell mit dieser Frage beschäftigt. So wird beispielsweise von Morawitz (2) angegeben, daß die Pigmentierungen bei Morbus Addison durch kombinierte Verabreichung von Vitamin C und Nebennierenrindenhormon besser verschwinden, als durch alleinige Rindenhormongabe. Auch bei Pigmentierungen, die infolge chronischer Erkrankung des Magen-Darm-Kanals auftreten, soll Ascorbinsäurezufuhr sich als wirksam erweisen. Dagegen sind die Urteile über Behandlungserfolge des Chloasma uterinum (3) keineswegs eindeutig.

Sehr widersprechende Ergebnisse haben nun auch die experimentellen Versuche gezeitigt. So konnte v. Drigalski (4) an mit Quarzlicht bestrahlten Hautfeldern keine Pigmentierungsunterschiede bei den Versuchspersonen mit oder ohne Vitamin-C-Verabfolgung beobachten. Schade (5) dagegen glaubt, eine Abschwächung der Pigmentation bei ähnlicher Versuchsanordnung gesehen zu haben. Doch scheint es schwierig, bei derartiger Methodik ein sicheres Urteil gewinnen zu können.

Ein sehr wesentliches Ergebnis zeitigten nun Untersuchungen über die Beeinflussung der Dopareaktion durch Vitamin C. Schroeder (6) fand nämlich, daß der Ausfall der Dopareaktion in der Meerschweinchenhaut eine starke Hemmung in vitro bei As-

corbinsäure-Zusatz erfährt. Das Ergebenis wurde von Fantl und Fessler (7) überprüft, wobei allerdings nach diesen Autoren bei unphysiologisch hohen Konzentrationen der Ascorbinsäure eine Hemmung erst auftreten soll.

In der vorliegenden Arbeit soll daher die hemmende Wirkung der Dopareaktion in vitro einer nochmaligen Prüfung unterzogen, gleichzeitig aber die etwaige dopahemmende Wirkung in vivo untersucht werden, d. h. bei Tieren, die mit Vitamin C überschwemmt waren. Schließlich soll auch geklärt werden, welchen Ausfall die Dopareaktion zeigt, wenn der Organismus an C-Vitamin verarmt, bzw. wenn er im schweren Skorbutzustand ascorbinsäurefrei ist.

Werkstoff und Untersuchungsart: Dopa stellt bekanntlich eine Abkürzung für 3,4-Dioxyphenylalanin dar. Legt man Gefrierschnitte von Hautstückchen im Dunkeln in eine wässrige 1 pro millige Lösung von Dioxyphenylalanin, so soll aus dem Dopa, infolge der Einwirkung einer spezifischen Dopaoxydase, Melanin entstehen. Nur Gewebe, die diese Dopaoxydase enthalten, zeigen daher eine bräunliche Verfärbung. Sie fällt bei den Säugetieren in den Basalzellen der Epidermis positiv aus, nicht dagegen in den Chromatophoren des Bindegewebes. Die Reaktion wurde in der vorliegenden Arbeit in der gleichen Weise wie bei Schroeder (6) durchgeführt und in erster Linie an der Ohrhaut angestellt. Zur Untersuchung gelangten 25 Meerschweinchen, und zwar:

1. 6 normale,
2. 4 mit Vitamin C überschwemmte und
3. 15 Skorbuttiere.

Sämtliche Meerschweinchen entstammten der gleichen Zucht und waren dreifarbig (braun-schwarz-weiß). Das Untersuchungsmaterial wurde außer vom Ohr teilweise auch durch Exzision im braunen Anteil der Haut gewonnen und, nachdem der gesetzte Hautdefekt versorgt war, sofort mit dem Gefriermikrotom geschnitten. Die dünnen Gefrierschnitte kamen bei Zimmertemperatur auf 24 Stunden vor Verdunsten geschützt, teils in eine 1 pro millige frische wässrige Lösung von Dioxyphenylalanin, teils in eine gleiche, der zu gleichen Teilen eine 1 pro millige 1-Ascorbinsäurelösung zugesetzt war, unter Verwendung von Phosphatpuffer. Danach wurden die Schnitte in dest. Wasser abgespült, zum Teil in Kernechtrot kurz nachgefärbt und in Glyzerin eingebettet. Kontrollschnitte unbehandelten Materials wurden von jedem Tier ebenfalls in Glyzerin eingedeckt, um einen Einblick

in die natürliche Verteilung des Pigmentes zu erhalten. Die Untersuchungen wurden im übrigen außer der Ohrhaut auch noch an Gewebeschnitten verschiedener Körperregionen beim selben Tier angestellt.

Ergebnisse der einzelnen Versuche:

Der gestellten Aufgabe entsprechend, gliederten sich dabei die Untersuchungen in 3 Abschnitte.

1. Normalen Tieren wurde ein Stückchen Haut in der angegebenen Weise exzidiert und die Dopareaktion vorgenommen, um den Schroeder'schen in vitro-Versuch zu prüfen. Das Ergebnis zeitigte eine völlige Übereinstimmung mit Schroeder. Abb. 1

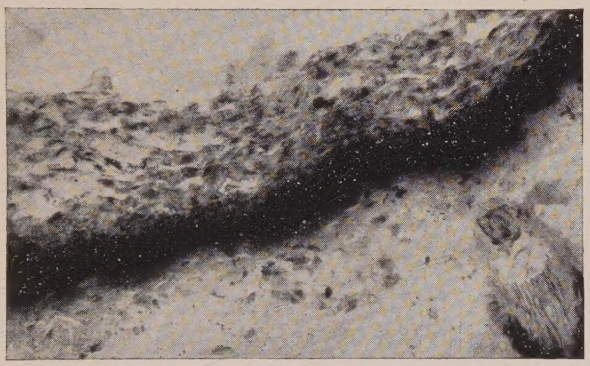

Abb. 1. Dopareaktion an normaler Meerschweinchenohrhaut stark positiv.

stellt einen Schnitt der normalen Ohrhaut ohne Ascorbinsäureeinwirkung dar. Während in den Gewebeschnitten die Pigmentbildung unter dem Einfluß der Ascorbinsäure stark abgeschwächt ausfällt, färbt sich hier das Zellplasma der Epidermis in der Dopalösung diffus schwarz und ist schon makroskopisch als schwarzer Streifen deutlich zu erkennen. Ganz besonders aber weisen Stratum basale und Stratum spinosum diese intensiv diffuse Verfärbung auf, während das Stratum granulosum eine mehr granuläre Schwarzfärbung ergibt. In der Cutis sind Einzelheiten, wie Zellen und Kerne, nicht zu erkennen, da die Abbildung einen ungefärbten Schnitt darstellt.

2. Nun lag es nahe, die Wirkung des Vitamin C in vivo zu untersuchen. Aus diesem Grunde wurden Meerschweinchen mit Ascorbinsäure überschwemmt. Sie erhielten längere Zeit reichlich

Grünfutter und außerdem 4 Stunden vor der Exzision des Hautstückchens noch 50 mg Vitamin C subcutan injiziert, so daß der Organismus mit dem „Hemmfaktor" ausgiebigst versehen war. Die Dopareaktion fiel aber dennoch in normaler Stärke aus. Auch hier verfärbte sich besonders die Basalschicht, aber auch das Stratum granulosum, intensiv schwarz, so daß eine hemmende Wirkung der Ascorbinsäure auf die Dopareaktion in vivo nicht festgestellt werden konnte.

3. Einen klaren Einblick über die fragliche hemmende Wirkung der Ascorbinsäure auf die Dopareaktion mußte nun die Untersuchung an Hautstückchen bei Skorbuttieren ergeben. Nachdem den Meerschweinchen ein Stückchen Haut exzidiert und die Dopareaktion, die naturgemäß stark positiv ausfiel, vorgenommen worden war, wurden die Tiere auf Skorbutkost gesetzt. Sie erhielten in der folgenden Zeit Heu, hocherhitzten Hafer und eine vitamin-C-freie Kost nach Demole (8). Der Bedarf an Vitaminen wurde durch subcutane Injektion von Lactoflavin und Vitamin B1 gedeckt. Vitamin D konnte durch Quarzlampenbestrahlung, Vitamin A durch intraperitoneale Vogan-Injektion zugeführt werden. Der Verlauf der Avitaminose ist an Hand von Gewichtskurven kontrolliert worden. Die Tiere zeigten zunächst ein unverändertes Verhalten. Bald darauf traten Inappetenz und Ermüdungserscheinungen auf. Bei einigen Tieren wurde nun nach 12tägiger Skorbutkost aus der Nachbarschaft der ersten Exzisionsstelle wieder ein Stückchen Haut herausgeschnitten und die Dopareaktion angestellt. Das Ergebnis zeigt Abb. 2. Auch hier handelt es sich um

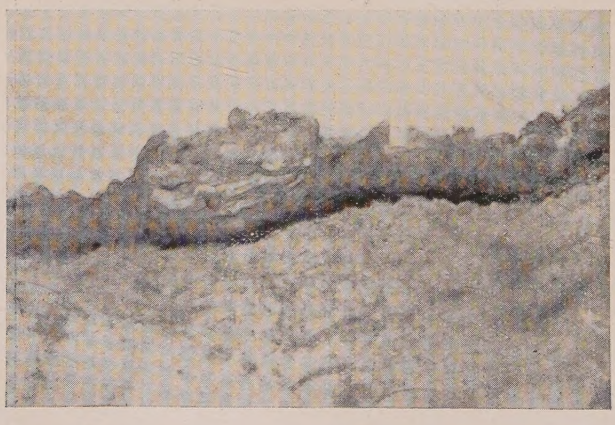

Abb. 2. Dopareaktion an Meerschweinchenohrhaut nach 12tägigem Skorbut schwach positiv.

einen Schnitt der Ohrhaut, der leicht mit Kernechtrot gefärbt ist. Cutis und Subcutis lassen Mangels einer spezifischen Färbung keine Einzelheiten erkennen. Die Basalzellen dagegen lassen jene diffuse Schwarzfärbung vermissen. Statt dessen weisen sie einen teils stärkeren, teils schwächeren Granulasaum auf, der sich auf das Stratum basale beschränkt, während in den anderen Schichten fast keine Granulabildung mehr zu finden ist. Die Dopareaktion ist schwach positiv geworden.

Nachdem die Meerschweinchen 21 bis 28 Tage C-vitaminfrei ernährt worden waren, wiesen sie die Zeichen hochgradigsten Skorbuts auf. Die Ermüdungserscheinungen hatten noch stärkere Ausmaße angenommen. Das Fell war eigenartig struppig, was sich vor allem am Kopf in besonderem Maße ausprägte. Das Körpergewicht hatte sich um ein Drittel und mehr seines Ausgangsgewichtes vermindert, was wohl in erster Linie auf die Inanition zurückgeführt werden muß. In diesem teils moribunden Zustande wurde nun die Dopareaktion noch einmal durchgeführt. Das Ergebnis ergab in vielen Fällen eine sehr starke Abschwächung des Reaktionsausfalles oder war ein völlig negatives, wie in Abb. 3. Hier ist wiederum ein Schnitt der Ohrhaut dargestellt, der schwach

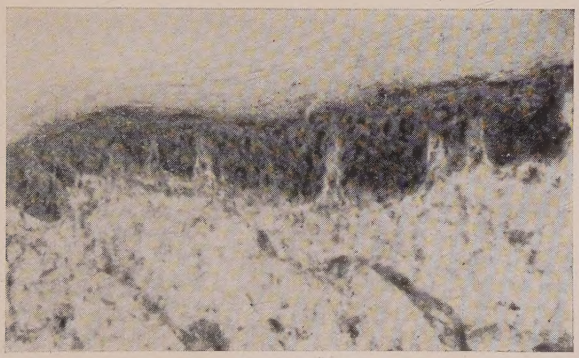

Abb. 3. Dopareaktion an Meerschweinchenohrhaut nach 21tägigem Skorbut völlig negativ.

mit Kernechtrot gefärbt wurde. Die schwarzen Granula sind nun vollständig aus den Basalzellen verschwunden.

In einigen Fällen wurden Tiere nun wieder auf Normalkost gesetzt. Sie erhielten außer Grünfutter, das sie teilweise nicht mehr aufnahmen, täglich 100 mg Vitamin C injiziert. Da der Skorbut jedoch zu fortgeschritten war, erholten sich auch die

noch übrig gebliebenen Tiere nicht mehr und starben bald. Die Untersuchung der Haut kurz vor ihrem Tode ergab jedoch wiederum, wenn auch zum Teil nur eine, wenn auch schwache, so doch deutlich positive Dopareaktion.

Besprechungen der Ergebnisse: Die vorliegenden Untersuchungen ergeben also in der Tat, daß die Ascorbinsäure die Dopareaktion in vitro zu hemmen vermag. Das Ergebnis läßt sich in vivo aber nicht reproduzieren; denn auch hohe Ascorbinsäuredosen injiziert, vermögen den Ausfall der Dopareaktion nicht abzuschwächen. Man muß daher annehmen, daß in vitro die Ascorbinsäure das Dopareagenz beeinflußt, so daß es zu keiner Reaktion mit der Dopaoxydase mehr kommt. Die Dopaoxydase als solche wird durch Vitamin C in vitro nicht beeinflußt, da Grüneberg und Schade (9) gezeigt hatten, daß Hautstückchen, die in Ascorbinsäure gelegt und aus denen die Ascorbinsäure wieder herausgeschwemmt worden war, keine Abschwächung der Dopamelaninbildung aufwiesen. Um so eindrucksvoller ist aber das Ergebnis des Reaktionsausfalles am Skorbuttier, denn die Reaktion müßte ja nun mehr beim Ausfall der C-Vitaminwirkung besonders stark auftreten, wenn die in vitro abschwächende Wirkung der Ascorbinsäure auch in vivo Gültigkeit besäße. Das ist aber keineswegs der Fall, sondern die Reaktion fällt im schweren Skorbutzustande im Gegenteil so gut wie vollständig negativ aus. Die Ursache hierfür kann nach dem oben angeführten Wesen der Dopareaktion nur darin liegen, daß beim Skobutorganismus keine wirksame Dopaoxydase mehr vorhanden ist. Daraus läßt sich nun schließen, daß bei Mangel an Vitamin C offenbar die Dopaoxydase nicht mehr in wirksamer Form gebildet werden kann. In diesem Zusammenhange sei darauf verwiesen, daß die Ascorbinsäure für die Synthese einer Reihe von Substanzen von entscheidender Bedeutung ist, und daß Ascorbinsäure ganz allgemein eine wesentliche Rolle bei Arbeitsleistungen von Zellen, denen ein Syntheseeffekt zugrunde liegt, spielt. Besonders die Wirkung mancher Fermentsysteme ist an die Anwesenheit von Ascorbinsäure geknüpft, so z. B. bedürfen die protolytischen Fermente in hystiozytären Zellen der Ascorbinsäure, um zu ihrer vollen Wirksamkeit zu gelangen. Besonders wesentlich erscheint, daß Anzeichen vorliegen, daß in Pigmentkörnern, in denen Melaninbildung erfolgt, ein Redoxpotential vorliegt, welches von dem des umgebenden Protoplasma stark abweicht. Darauf weist die dort bei vitaler Anwendung elektiv erfolgende Bläuung (= Oxydation) von Leukomethylenblau. Es ist nicht ausgeschlossen, daß daher die Ascorbinsäure in den Pigmentgranula, die teilweise ein starkes Reduktionsvermögen aufweisen, vorkommt und so in das

Fermentsystem bei der Pigmententstehung direkt eingeschaltet ist. Besonders wesentlich erscheint es zu betonen, welch auffallender Kontrast zwischen dem Ergebnis des in vitro- und in vivo-Versuches besteht. Das Beispiel der Ascorbinsäurewirkung auf die Dopareaktion stellt somit einen neuen Hinweis dar, daß Reaktionen in der Struktur der lebenden Substanz sich gänzlich anders abspielen können, als das Ergebnis eines in vitro-Versuches vermuten läßt.

Zusammenfassung:

1. Die Ascorbinsäure vermag den Ausfall der Dopareaktion in vitro deutlich abzuschwächen, wie dies von Schroeder schon gezeigt wurde.
2. Diese abschwächende Wirkung der Ascorbinsäure auf die Dopareaktion ist am lebenden Tier nach Verabfolgung hoher C-Vitamindosen nicht ersichtlich.
3. Beim Skorbuttier fällt die Dopareaktion stark abgeschwächt oder völlig negativ aus. Dies zeigt, daß die Ascorbinsäure offenbar für das Zustandekommen bzw. die Wirkung der Dopaoxydase erforderlich ist. Die Ascorbinsäure kann daher in vivo nicht als ein die Pigmentbildung hemmender Faktor bezeichnet werden.

Literatur:

1. Szent-Györgyi, Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 1934/426.
2. Morawitz, Kli Wschr. 1934/324.
3. Teschner, Kli Wschr. 1934/1614.
4. v. Drigalski, Kli Wschr. 1934/1354.
5. Schade, Kli Wschr. 1935/60.
6. Schroeder, Kli Wschr. 1934/553.
7. Fantl u. Fessler, Kli Wschr. 1935/576.
8. Demole, Ztschr. f. Vit.-Forschg. Bd. 8. 1938/39.
9. Grüneberg u. Schade, Kli Wschr. 1934/1353.

Lebenslauf

Ich, Gerhard Skutta, wurde als Sohn des Bäckermeisters Josef Skutta am 21. Oktober 1912 in Gleiwitz OS. geboren. Von meinem 6. Lebensjahre an besuchte ich die Volksschule. Von Ostern 1922 bis Oktober 1925 war ich Schüler der Knabenmittelschule. Oktober 1925 trat ich dann in die Oberrealschule Gleiwitz über, wo ich im Februar 1935 die Reifeprüfung ablegte. Vom 1. April bis 30. September 1935 diente ich freiwillig im Arbeitsdienstlager Gleiwitz-Petersdorf. Am 1. November 1935 wurde ich an der Universität Breslau immatrikuliert und begann mein medizinisches Studium. Am 11. Februar 1938 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und am 16. Mai 1940 vor dem Prüfungsausschuß in Breslau das medizinische Staatsexamen, wozu ich von meinem Truppenteil nach Beendigung des Polenkrieges abkommandiert wurde und wo ich nun wieder diene.